



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA DETECCIÓN  
DEL SABOR GRASO Y DULCE EN EL TRACTO  
GASTROINTESINAL DE POLLOS BROILER**

**Javiera Sofía Salgado Donoso**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Fomento de la  
Producción Animal

PROFESOR GUÍA: SERGIO ALEJANDRO GUZMÁN PINO  
Universidad de Chile

FONDECYT N°11190569

SANTIAGO, CHILE  
2022



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA DETECCIÓN  
DEL SABOR GRASO Y DULCE EN EL TRACTO  
GASTROINTESINAL DE POLLOS BROILER**

**Javiera Sofía Salgado Donoso**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico  
Veterinario  
Departamento de Fomento de la  
Producción Animal

NOTA FINAL: .....

Firma

Profesor Guía:	Sergio Guzmán P.	.....
Profesora Correctora:	Carolina Valenzuela V.	.....
Profesor Corrector:	Jurij Wacyk G.	.....

SANTIAGO, CHILE  
2022

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría empezar por agradecer a mi profesor guía Sergio Guzmán por el apoyo y enseñanzas durante este largo proceso, así como a mis profesores correctores Carolina y Jurij por su tiempo y colaboración.

A mi padres y hermanas, por ser el apoyo más grande durante mi educación universitaria y mi vida en general, ya que sin ellos no sería capaz de lograr mis metas y sueños. Gracias por siempre estar para mí.

A mis amigas de la U por ser las mejores personas que pude haber conocido en mi vida universitaria.

A mi Betina y Bali, quienes me acompañaron en todas las largas noches de estudio y por quienes seguiré esforzándome diariamente para dar lo mejor de mí en esta hermosa carrera.

## ÍNDICE DE CAPÍTULOS

1.	RESUMEN .....	1
2.	ABSTRACT .....	2
3.	INTRODUCCIÓN .....	3
4.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	5
4.1.	Generalidades del sistema gustativo. ....	5
4.3.	Sabor graso en pollos .....	7
4.4.	Sabor dulce en pollos. ....	8
5.	HIPÓTESIS .....	10
6.	OBJETIVO GENERAL .....	10
7.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
8.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	11
8.1.	Extracción de ARN .....	12
8.2.	Cuantificación de ARN (Qubit) .....	12
8.3.	Remoción de ADN Genómico .....	12
8.4.	Síntesis de ADNc .....	13
8.5.	Protocolo Q-PCR en tiempo real .....	13
8.6.	Obtención de datos y análisis estadístico .....	14
9.	RESULTADOS .....	15
9.1.	Objetivo Específico. 1: Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor graso en pollos broiler. ....	15
9.2.	Objetivo Específico 2: Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor dulce en pollos broiler. ....	18
10.	DISCUSIÓN .....	20
10.1.	Sabor graso .....	20
10.2.	Sabor dulce .....	22
11.	CONCLUSIÓN .....	25
12.	BIBLIOGRAFÍA .....	26
13.	ANEXO .....	32

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Partidores a utilizar en el estudio.....	14
<b>Figura 1.</b> Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR41 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).....	15
<b>Figura 2.</b> Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR43 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).....	16
<b>Figura 3.</b> Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR120 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).....	17
<b>Figura 4.</b> Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de SGLT-1 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).....	18
<b>Figura 5.</b> Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de T1R3 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).....	19

## 1. RESUMEN

Al igual que los mamíferos, las aves integran la percepción gustativa con los eventos post-ingestivos, particularmente los que se originan en el sistema gastrointestinal, para controlar el consumo de alimento. Actualmente son escasos los estudios de expresión de receptores del gusto y otros genes relacionados con el sabor en los tejidos gustativos o extragustativos en pollos de engorda, especialmente los relacionados con la percepción de nutrientes que son la principal fuente energética para las aves, como lo son carbohidratos y lípidos. El objetivo de esta Memoria de Título fue analizar la expresión génica de receptores gustativos asociados al sabor dulce y graso en diferentes secciones del tracto gastrointestinal (TGI) de pollos broiler y comparar la expresión entre aves jóvenes y adultas. Los genes evaluados fueron GPR41, GPR43, GPR120, SGLT-1 y T1R3. Para llevar a cabo el experimento se usaron 16 aves de la línea broiler Ross 308 de 7 y 26 días respectivamente, a las cuales se les extrajo un total de 10 muestras del TGI (base de paladar, base de lengua, buche, proventrículo, molleja, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon). El análisis de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Las muestras fueron procesadas por medio de la utilización de kits siguiendo las indicaciones de los fabricantes para la obtención de ARN y posterior ADNc con la finalidad de llevar a cabo la técnica de PCR en tiempo real. Los resultados de este estudio lograron demostrar la presencia de estos receptores del gusto a lo largo de todo el TGI. Por otro lado, se logró identificar que la expresión génica de receptores dulce es mayor en individuos de 7 días que en individuos de 26 días ( $p < 0,05$ ) y los receptores grasos no variaron con la edad. Según los resultados obtenidos existe expresión diferencial de receptores asociados a la percepción de compuestos de sabor graso y dulce en los diferentes segmentos del TGI de las aves broiler.

**Palabras claves:** broilers, expresión génica, receptores del gusto, tracto gastrointestinal, graso, dulce.

## 2. ABSTRACT

Like mammals, birds integrate taste perception with post-ingestive events, particularly those originating in the gastrointestinal system, to control food intake. Currently there are few studies on the expression of taste receptors and other genes related to taste in the gustatory or extragustative tissues in broilers, especially those related to the perception of nutrients that are the main energy source for birds, such as carbohydrates and lipids. The objective of this work was to analyze the gene expression of taste receptors associated with sweet and fatty taste in different sections of the gastrointestinal tract (GIT) of broiler chickens and to compare the expression between young and adult birds. The genes evaluated were GPR41, GPR43, GPR120, SGLT-1 and T1R3. To carry out the experiment, 16 birds of the Ross 308 broiler line of 7 and 26 days respectively were used, from which a total of 10 samples of the GIT were extracted (base of palate, base of tongue, crop, proventriculus, gizzard, duodenum, jejunum, ileum, cecum, and colon). The analysis of the samples was carried out in the Centralized Veterinary Research Laboratory of the Faculty of Veterinary and Animal Sciences of Universidad de Chile. The samples were processed through the use of kits following the manufacturers' instructions for obtaining RNA and subsequent cDNA in order to carry out the real-time PCR technique. The results of this study were able to demonstrate the presence of these taste receptors throughout the GIT. On the other hand, it was possible to identify that the gene expression of sweet receptors is higher in 7-day-old individuals than in 26-day-old individuals ( $p < 0.05$ ) and fatty receptors did not vary with age. According to the results obtained, there is differential expression of receptors associated with the perception of fatty and sweet flavor compounds in the different segments of the GIT of broiler birds.

**Keywords:** broilers, gene expression, taste receptors, gastrointestinal tract, fatty, sweet.

### 3. INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de alimentos de origen animal ha llevado a un importante crecimiento e industrialización de la producción avícola, con más del 36% de la producción animal total a nivel mundial (FAO, 2020). Esta situación se ha guiado a una constante optimización de los recursos y procesos que subyacen la producción de aves de engorda. Lo anterior se observa en la intensificación de su sistema de confinamiento, con altos niveles de tecnificación y con el desarrollo de animales con un alto rendimiento gracias a la selección génica, lo que conlleva a una mayor performance de crecimiento.

Para alcanzar un óptimo rendimiento productivo es fundamental un adecuado manejo nutricional que permita satisfacer los requerimientos específicos de las aves. Sin embargo, según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación en el 2020 (FAO, 2020), la alimentación es el insumo que representa el costo variable más alto para la producción avícola intensiva, superando 70% de los costos totales de producción, por lo que la disponibilidad de alimentos a bajo precio y de buena calidad es fundamental para la expansión de la industria avícola.

Los manejos nutricionales de los pollos de engorda en la actualidad se basa en el uso de dietas estándar que satisfacen sus requerimientos en las distintas etapas del ciclo productivo. Los animales pueden decidir la cantidad de alimento que consumen, pero no eligen o prefieren un determinado ingrediente de acuerdo con sus propiedades sensoriales, efectos post-ingestivos o resultados metabólicos (Smulders y Algers, 2009). Por estas razones, el conocimiento de los factores que influyen la regulación del consumo voluntario de alimento en esta especie se vuelve de gran importancia, dado que su mejora, aumenta la rentabilidad del sistema.

En los últimos años, se ha dado especial atención en los aspectos sensoriales que impulsan la ingesta de alimento en varias especies, ya que al igual que los mamíferos, las aves integran la percepción gustativa con los eventos post-ingestivos, particularmente los que se originan en el sistema gastrointestinal, para controlar el consumo de alimento (Niknafs y Roura, 2018). Aun cuando la investigación en mamíferos ha avanzado de forma importante, hasta hoy siguen siendo escasos los estudios de expresión de receptores del gusto y otros genes

relacionados con el sabor en los tejidos gustativos o extragustativos en pollos de engorda, especialmente estudios relacionados con la percepción de nutrientes que son la principal fuente energética para las aves, como lo son carbohidratos y lípidos (Byerly *et al.*, 2010).

El objetivo de esta Memoria de Título fue analizar la expresión génica de receptores gustativos asociados al sabor dulce y graso en diferentes secciones del tracto gastrointestinal (TGI) de pollos broiler en diferentes edades del ciclo productivo.

## **4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1. Generalidades del sistema gustativo.**

El sistema gustativo es un sistema que permite detectar compuestos nutricionalmente relevantes como lo son los carbohidratos, aminoácidos y lípidos; y compuestos tóxicos (Roura *et al.*, 2013). Los principales agonistas naturales de los receptores del gusto conocidos son nutrientes o factores antinutricionales, es por esto que existe una relación directa entre el gusto y la nutrición. Las diferencias del sistema de gusto entre las distintas especies están íntimamente relacionadas con su nicho ecológico y la disponibilidad de alimentos (Shi y Zhang, 2006).

Los principales elementos sensoriales para el gusto son las papilas gustativas, las cuales detectan diferentes tipos de sabores y traducen los estímulos gustativos en señales neuronales transmitidas al cerebro para la percepción de los sabores (Liu *et al.*, 2018). Sin embargo, los receptores del gusto también se han identificado en tejidos extra gustativos, como los pulmones y el tracto gastrointestinal (TGI), y la activación de estos receptores en el TGI se ha relacionado con diferentes vías metabólicas y endocrinas (Cheled-Shoval *et al.*, 2015).

Los receptores gustativos acoplados a proteínas G, similares a los del sistema lingual, que responden a sabores ácidos, dulce, amargo, umami y graso, se expresan en las células endocrinas dentro de la mucosa intestinal y se coordinan, junto con otros elementos de señalización quimiosensoriales, para la liberación de hormonas que regulan la homeostasis energética (Janssen y Depoortere, 2013), transformando al TGI como un órgano sensorial de gran importancia.

El TGI es responsable de detectar y reaccionar a las señales químicas nutricionales y no nutricionales lumbales e iniciar vías posteriores, que incluyen actividad secretora de glándulas gastrointestinales, motilidad intestinal y vaciado, la actividad de digestión y absorción. Además, es responsable de iniciar vías hormonales que permiten regular la ingesta calórica, secreción de insulina pancreática y metabolismo (Rozengurt, 2006).

El descubrimiento de los receptores gustativos en el intestino de diferentes organismos ha llevado a importantes avances en la comprensión de los mecanismos de detección molecular en el TGI (Cheled-Shoval *et al.*, 2015).

#### **4.2. El sistema del gusto y detección de nutrientes en aves.**

Las aves son una de las principales especies productivas a nivel mundial (FAO, 2020), lo cual lleva a una constante búsqueda para optimizar su producción, siendo el manejo nutricional uno de los factores fundamentales para lograr este objetivo.

Aclarar el mecanismo del sentido gustativo en estos animales se vuelve relevante para así mejorar la eficiencia de la alimentación, considerando que la percepción del gusto se ha utilizado con frecuencia para la mejora en el rendimiento, la mortalidad, la conversión e ingesta de alimento. El sentido del gusto guía las elecciones nutritivas y motivan el consumo de alimento y, por lo tanto, tiene un impacto directo en la productividad de estos animales (Niknafs y Roura, 2018; Liu *et al.*, 2018).

Hasta hace poco tiempo, se pensaba que los pollos tenían poca agudeza gustativa por tener entre 240-360 papilas gustativas, dependiendo de la raza, lo cual es bajo en comparación con otros animales como, por ejemplo, roedores (~1000) y bovinos (~18000) (Liu *et al.*, 2018). Sin embargo, estudios más recientes indican que los pollos tienen un sistema del gusto bien desarrollado que les permite distinguir al menos cuatro de los cinco/seis sabores primarios, incluidos umami, salado, ácido y amargo.

Las aves tienen la particularidad de que las células de sus papilas gustativas son de origen mesenquimático, a diferencia de los humanos que son de origen epitelial, por lo cual se podría especular que las células sensoriales del gusto en los pollos tienen el potencial de extenderse, alcanzando una distribución más amplia en los tejidos corporales (Niknafs y Roura, 2018).

La disponibilidad del genoma del pollo permitió ampliar el campo de investigación del sistema del gusto aviar y la detección de nutrientes. Así, Lagerström *et al.* (2006) identificaron 557 genes del receptor acoplado a proteínas G que forman parte del genoma del

pollo, de los cuales más de 40 podrían estar directamente relacionados con el gusto y la detección de nutrientes.

A pesar de lo anterior, la existencia de la detección de los sabores graso y dulce siguen siendo poco claros y se requiere más estudios en estos animales (Roura *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2018).

### **4.3. Sabor graso en pollos**

El sabor graso es una de las modalidades gustativas con implicaciones potencialmente relevantes para la nutrición avícola ya que el aumento en la proporción de grasa dietaria incrementa la ingesta de alimento, incluso cuando el contenido calórico de la dieta se mantiene constante (Roura *et al.*, 2013). Este fenómeno probablemente se asocia a la palatabilidad que aportan las grasas.

Del mismo modo, Furuse *et al.* (1996) demostraron que la percepción gustativa juega un papel clave en la preferencia por dietas que contienen aceites vegetales en pollos. En esta misma línea también se ha demostrado que los pollos aumentan la ingesta de una dieta con alto contenido de grasas, en comparación con una dieta isoenergética baja en grasas (Niknafs y Roura, 2018).

Los pollos muestran una mayor ingesta de ácidos grasos de cadena larga (aceite de maíz) en comparación con una dieta suplementada con ácidos grasos de cadena media (tricaprilato de glicerilo) y, curiosamente, dicha preferencia se inhibe después de aplicar un anestésico local para paralizar la lengua, lo que sugiere el papel de la percepción oral en las preferencias de grasas en la dieta (Furuse *et al.*, 1993).

Tanto los estudios en roedores como en humanos han sugerido que la microbiota intestinal y los ácidos grasos de cadena corta generados podrían contribuir significativamente al equilibrio energético del huésped y a la adiposidad (Engelstuf *et al.*, 2008).

El receptor de ácidos grasos de cadena larga, GPR120, se encontró expresado en el paladar de los pollos, y se especula que está asociado a la detección de ácido oleico y linoleico (Meslin *et al.*, 2015). Además, también se ha informado la expresión de los receptores de

ácidos grasos de cadena corta GPR43 y GPR41 en el intestino del pollo (Niknafs y Roura, 2018; Meslin *et al.*, 2015).

#### **4.4. Sabor dulce en pollos.**

Las aves carecen del gen T1R2 (receptor del sabor tipo 1 miembro 2), el cual funciona, junto con T1R3 (receptor del sabor tipo 1 miembro 3), como un heterodímero responsable de la detección del sabor dulce (CITA).

A pesar de esto, los pollos muestran diferentes grados de preferencia por sacarosa, fructosa y xilosa (CITA). Sumado a esto, en estudios recientes se vio actividad neuronal de múltiples unidades de la rama lingual del nervio glossofaríngeo después de la estimulación de la lengua con estos compuestos (Cheled-Shoval *et al.*, 2018; Niknafs y Roura, 2018). Además, se ha demostrado que aves, como el colibrí, han adaptado el receptor T1R3 para percibir principalmente carbohidratos y, presumiblemente, dulzura (Baldwin *et al.*, 2014). Esto demostraría que los pollos responden favorablemente a los diferentes azúcares, de manera que sólo una de las subunidades T1R2-T1R3 es necesaria para la detección del sabor dulce.

Se puede extrapolar en las aves una vía independiente de T1R2 que fue descrita recientemente en roedores, la cual involucra a las oligosacaridasas y el SGLT-1 (transportador de sodio-glucosa 1) en las papilas gustativas, los cuales actuarían como sensores de azúcares metabolizables permitiendo detectar el valor calórico de estos compuestos (Sukumarana *et al.*, 2016; Niknafs y Roura, 2018).

Lo que se sabe hasta ahora sobre la quimiodetección nutricional de pollos muestra un área con repercusiones potencialmente beneficiosas en la nutrición aviar que necesita más investigación, ya que podría contribuir en mejorar la ingesta de alimento y el rendimiento productivo del animal. (Niknafs y Roura, 2018).

Debido a la escasez de estudios con respecto a los genes relacionados con la detección del sabor graso y dulce en esta especie, la presente Memoria de Título tuvo por objetivo identificar sus expresiones en los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal de pollos broiler. Además, se realizó una comparación entre aves jóvenes y adultas de la expresión de

estos receptores, ya que se han realizado estudios con genes receptores de sabor de otros sabores en aves y se pudo evidenciar diferencias con la edad (Cheled-Shoval *et al.*, 2015), por lo que se esperó también una variación de los genes a estudiar en este trabajo.

## **5. HIPÓTESIS**

Existe expresión de los genes asociados a la detección del sabor graso y dulce (T1R3, SGLT1, GPR41, GPR43 y GPR120) en los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal de pollos broiler, existiendo una variación en la expresión de estos genes de acuerdo con la edad de las aves.

## **6. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores asociados a la detección de sabor graso y dulce en distintos tejidos del tracto gastrointestinal de pollos broiler y comparar la expresión entre aves jóvenes y adultas.

## **7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**7.1.** Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor graso en pollos broiler (GPR41, GPR43 y GPR120).

**7.2.** Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor dulce en pollos broiler (T1R3 y SGLT1).

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los procedimientos con aves se llevaron a cabo en la Unidad Experimental de Nutrición y Producción Avícola de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET), Universidad de Chile. Esta instalación tiene una estructura convencional, con ventilación natural y un total de 32 corrales de piso y es calefaccionada por campanas infrarrojas (a gas) con control de temperatura por termostato.

Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile (certificado N°19320-VET-UCH) y los análisis de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria (LaCIV) de FAVET.

Los pollos broiler (Ross 308) se adquirieron de una empresa avícola comercial ubicada en la comuna de Pirque, Región Metropolitana. Estos fueron utilizados para evaluar un modelo de preferencias alimentarias en FAVET durante un ciclo completo de producción, siendo alimentados con dietas estándar iniciales y finales (véase en el Anexo) formuladas de acuerdo a los requerimientos nutricionales de National Research Council (NRC) del año 1994.

Los experimentos contaron con un total de 96 pollos, los cuales se dividieron en dos grupos de 48 broilers cada uno. Estos datos fueron empleados para otra Memoria de Título y no serán expuestos en la presente.

Dentro de cada prueba experimental antes mencionada, se seleccionaron al azar 8 broilers, los días 7 y 26 del ciclo productivo para el muestreo de tejidos del TGI. Los criterios de selección se basaron en un ave por corral, que se encontraron en el peso promedio y sin evidencia externa de enfermedad o anormalidades. Los animales se sacrificaron por dislocación cervical manual como método válido para la eutanasia en aves de corral (OIE, 2018).

Después de la eutanasia, se recolectaron muestras de tejido con un tamaño de 0,5 cm x 0,5 cm x 0,5 cm o el equivalente a 30 mg, de 10 secciones a lo largo del TGI de los pollos. Estos incluyeron paladar, lengua, buche, proventrículo, molleja, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon. Se tomaron tres muestras aleatorias de cada tejido para mejorar su representación. Estas se procesaron para determinar la expresión relativa de genes asociados a la percepción

del sabor dulce y graso en pollos, denominados T1R3 y SGLT1 para azúcares; GPR 41 y GPR43 para ácidos grasos de cadena corta, y por último GPR120 para ácidos grasos de cadena media y larga, utilizando la Reacción en Cadena de Polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR).

Una vez obtenidas, las muestras de tejido se depositaron en tubos Falcon y se preservaron en hielo para su utilización inmediata en LaCIV. El procesamiento de estas muestras se realizó con los siguientes pasos:

### **8.1.Extracción de ARN**

Las muestras de los tejidos se traspasaron a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml que contenía B-Mercaptoetanol con buffer de lisis del kit de purificación GeneJET RNA (Thermo Scientific, UK, GB) y fue posteriormente macerado y homogenizado con un homogeneizador rotor-estator. El contenido obtenido se enjuagó y purificó en columna usando buffer fosfato salino (PBS) del mismo kit, y una vez finalizado el proceso, se recogió el ARN siguiendo el protocolo del fabricante.

### **8.2.Cuantificación de ARN (Qubit)**

Las muestras de ARN obtenidas se preservaron en hielo y fueron trabajadas rápidamente luego de agregar los reactivos pertinentes dada las condiciones fotosensibles de estos. Las muestras se centrifugaron e incubaron por 2 minutos, según indicación, enseguida se leyeron en el equipo QUBIT 2.0 (Fluorometer, CA, EEUU), donde se evaluó la calidad y cantidad de ARN utilizando un kit de ensayo de QUBIT y ARN (Thermo Scientific, UK, GB).

### **8.3.Remoción de ADN Genómico**

El ADN genómico se eliminó para lograr la purificación del ARN utilizando un kit de ADNasa I sin ARNasa (Thermo Scientific, UK, GB). Para el uso del Kit se determinó volumen de muestra, reactivos y agua según cálculos realizados para 10 uL de muestra total. Los análisis se realizaron por separado para cada muestra y si la cantidad de ARN fue distinta a 1000ng se hizo un ajuste del volumen de los reactivos proporcionalmente.

Posterior al cálculo necesario para cada tubo de 0,2 ml, estos fueron incubados por 30 minutos a 37°C en Termociclador Step One (Applied Biosystems, CA, EEUU). Pasado el tiempo del primer ciclo, se agregó 10% de EDTA (1uL por cada 10 uL de muestra) y se volvió a incubar 10 minutos a 65°C para inactivar la ADNasa I en el Termociclador. Al finalizar el programa se colocaron las muestras en hielo inmediatamente.

#### **8.4. Síntesis de ADNc**

Las muestras y reactivos se centrifugaron antes de su uso. El ARN se transcribió inversamente en ADN complementario (ADNc) utilizando kit de síntesis de ADNc AffinityScript (Agilent technologies, CA, EEUU). Para llevar a cabo la síntesis, el volumen total de cada tubo debió ser de 20 uL. Los componentes en tubo tienen el siguiente orden: agua libre de nucleasas, Master mix de síntesis de ADNc, Oligo (dT), RT/ARNasa AffinityScript (enzima transcriptasa reversa). Se incluyó un control sin transcriptasa reversa (RT negativo) para cada muestra para monitorear la contaminación por ADN genómico. Todos los tubos recibieron la misma cantidad de ARN en ng. Luego las muestras se incubaron en el termociclador, mediante el siguiente programa: 25°C por 5 minutos (hibridación de cebador), 42°C por 15 minutos (síntesis de ADNc); 95°C por 5 minutos (termino de transcripción reversa).

#### **8.5. Protocolo Q-PCR en tiempo real**

El ADNc se amplificó utilizando un Sistema de PCR en tiempo real Eco (Illumina, CA, EEUU) y una mezcla maestra del kit Brilliant SYBR Green qPCR (Agilent Technologies, CA, EEUU) junto con partidores oligonucleotídicos específicamente diseñados y validados que amplificaron los genes objetivo y los genes de referencia de pollos broiler en este estudio. Los partidores a utilizar para los genes que se estudiarán se enuncian en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Partidores a utilizar en el estudio

Gen de interés	Partidor <i>forward</i>	Partidor <i>reverse</i>
T1R3	ACA ACT CCA CGT CAC TCC TG	CCA TAG CTG ACC TGT GGA ATC A
SGLT1	AGC ATT TCA GCA TGG TGT GTC TTC	GAT GCT CCT ATC TCA GGG CAG TTC
GPR41	GAA GGT GGT TTG GGA GTG AA	CAG AGG ATT TGA GGC TGG AG
GPR43	GCC CCA TAG CAA ACT TCT	GGG CAG CCA TAA AGA GAG
GPR120	GCA CGG ACA GAA GGA AGA AG	CCA CCC CTG AAG TCT GAG AA
ACTIN (gen de referencia)	GAG AAA TTG TGC GTG ACA TCA	CCT GAA CCT CTC ATT GCC A
GAPDH (gen de referencia)	GTA GTG AAG GCT GCT GCT GA	TCC TTG GAT GCC ATG TGG AC

Para realizar el PCR, se utilizaron tubos Ependorf 500 uL, en ellos se agregó la solución madre de cada gen, la cual incluye agua libre de nucleasas, mezcla maestra, partidor *forward* y partidor *reverse*, esto tanto para las soluciones con genes de referencia como para las que posean los genes objetivos. Las soluciones preparadas, se centrifugaron y cargaron en la placa de PCR para continuar con el protocolo de amplificación y análisis correspondiente.

### 8.6. Obtención de datos y análisis estadístico

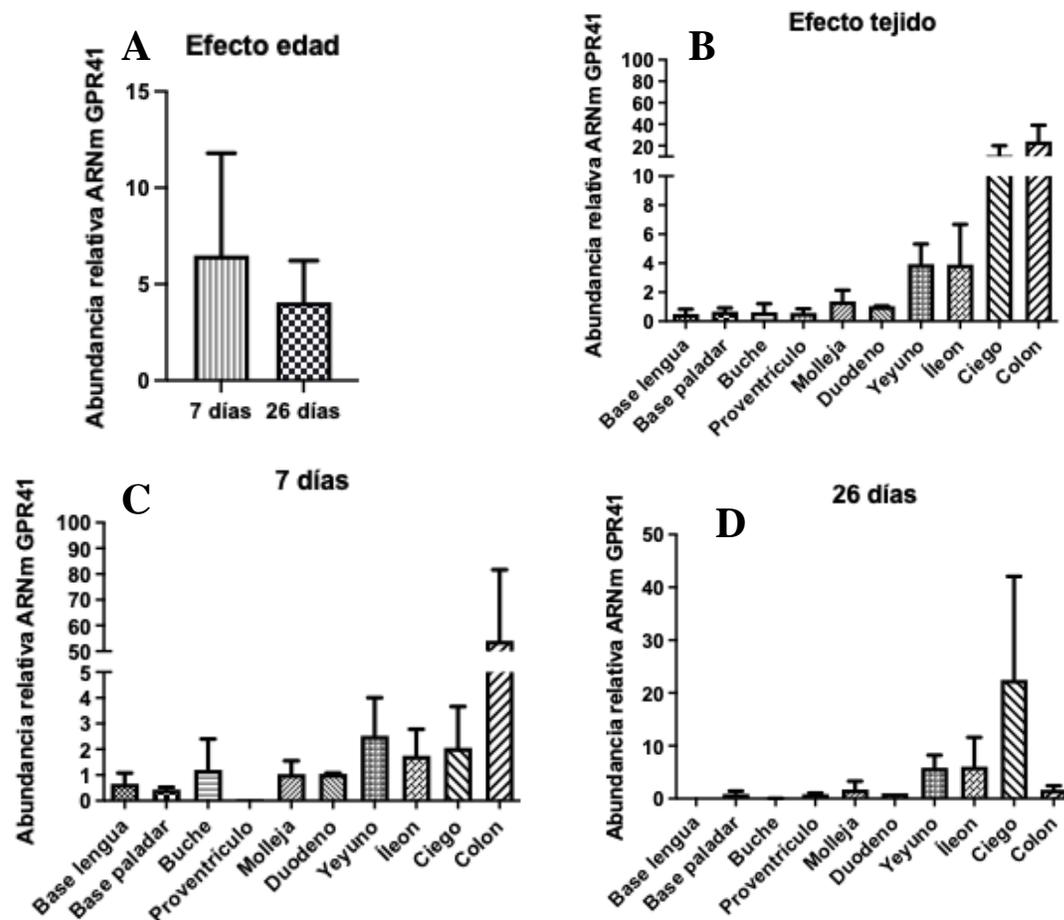
Para la cuantificación de los resultados obtenidos se utilizó el software estadístico RStudio (versión 4.1.3). El test de Shapiro–Wilk fue empleado para evaluar la normalidad de los datos y la prueba de Levene para evaluar la homocedasticidad. El resultado de estas pruebas arrojó que los datos no siguieron una distribución normal y además eran heterocedásticos, por lo que se procedió a transformar los datos utilizando bases en logaritmo, lambda y otros (ANEXO 2). Una vez transformados y para determinar el efecto de las variables edad, tejido e interacción entre ambas variables mencionadas, se llevó a cabo la prueba paramétrica de ANDEVA y para determinar las diferencias entre las medias se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey, el nivel  $\alpha$  para la determinación de significancia fue 0,05.

## 9. RESULTADOS

### 9.1. Objetivo Específico. 1: Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor graso en pollos broiler.

#### 9.1.1. Abundancia relativa de ARNm de GPR41

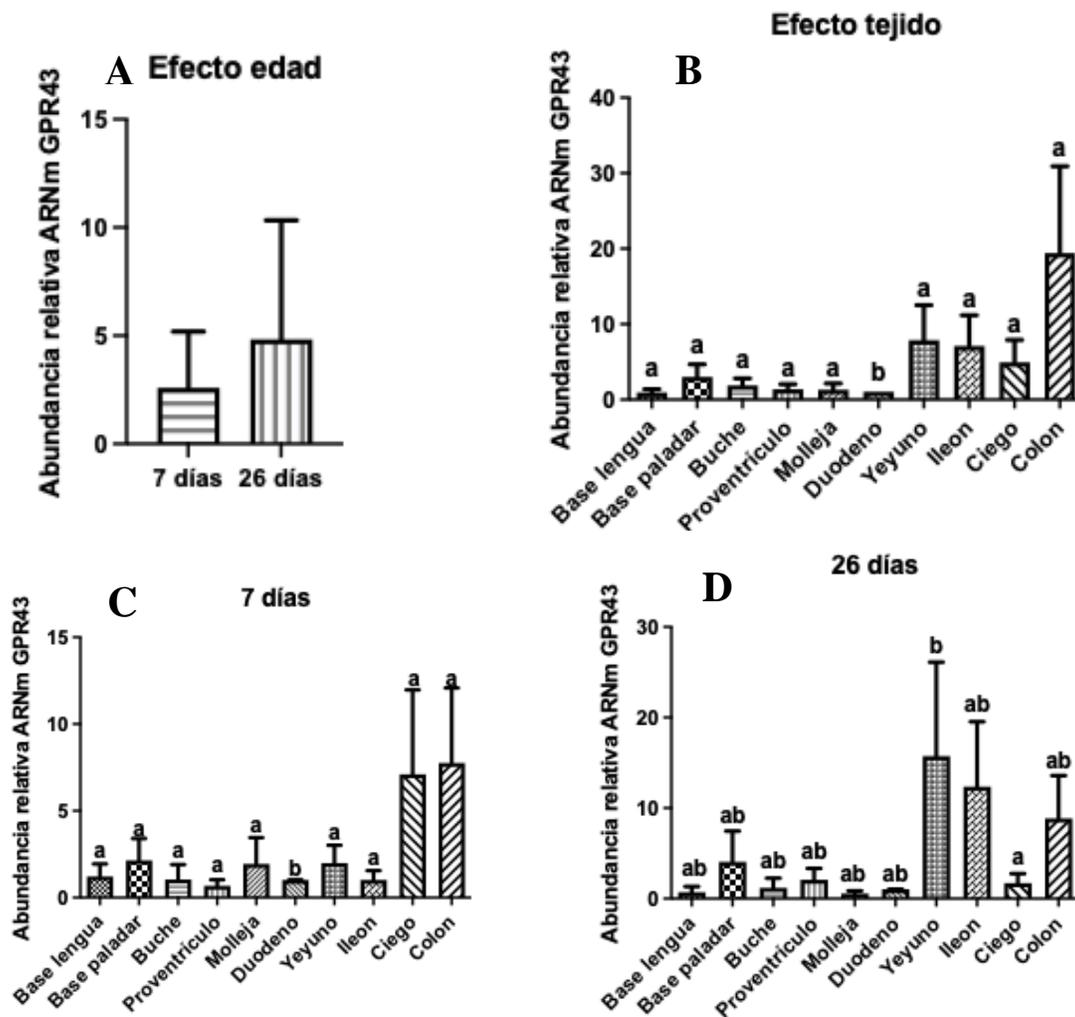
En relación a la expresión génica de GPR41 en los distintos tejidos muestreados no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la variable edad ( $p=0,612$ ), entre el grupo de aves de día 7 en contraste con el grupo de aves de día 26 de ciclo (Figura 1A). Por su parte, pese a que el gen se expresó en todos los tejidos del TGI, no se presentó diferencia significativa para la variable tejido ( $p=0,091$ ; Figura 1B). Finalmente, la variable interacción edad x tejido no mostró diferencias significativas tanto en el grupo de día 7 (Figura 1C) como en el día 26 de ciclo ( $p=0,104$ ; Figura 1D).



**Figura 1.** Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR41 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).

### 9.1.2. Abundancia relativa ARNm de GPR43

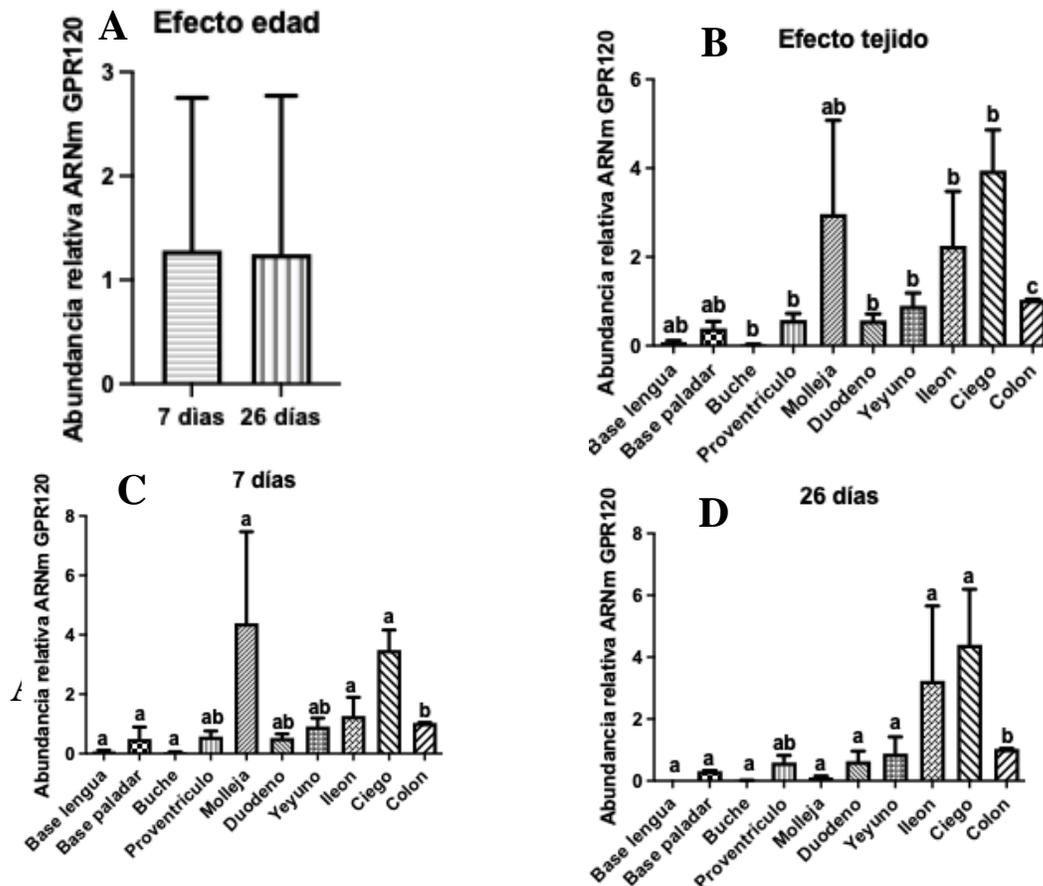
Respecto de la expresión génica de GPR43 en los distintos tejidos muestreados no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la variable edad ( $p=0,055$ ), entre el grupo de aves de día 7 en contraste con el grupo de aves de día 26 de ciclo (Figura 2A). Por su parte se observaron diferencias estadísticamente significativas en la variable tejido ( $p<0,0001$ ), observándose una menor expresión del gen en duodeno en comparación al resto de los tejidos (Figura 2B). En cuanto a la variable interacción edad x tejido se encontraron diferencias significativas ( $p< 0,0001$ ) en la expresión de duodeno en comparación al resto de los tejidos del TGI en el grupo de día 7 (Figura 2C) y entre yeyuno y ciego en el grupo de día 26 (Figura 2D).



**Figura 2.** Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR43 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).

### 9.1.3. Abundancia relativa ARNm de GPR120

La expresión génica de GPR120 en los distintos tejidos no mostró diferencias significativas en la variable edad ( $p=0,571$ ) entre el grupo de aves de día 7 en comparación con el grupo de aves de día 26 de ciclo (Figura 3A). La variable tejido presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,0001$ ) en colon en relación a los otros tejidos del TGI, evidenciándose una mayor abundancia con respecto a la base de la lengua, base de paladar, buche, proventrículo, duodeno y yeyuno, y una menor abundancia en comparación a molleja, íleon y ciego (Figura 3B). Por su parte, en la variable interacción edad x tejido se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,0001$ ) en el grupo de día 7 en colon, con una menor expresión respecto de molleja, íleon y ciego y mayor en comparación a base de lengua, base de paladar y buche (Figura 3C). Asimismo, en el grupo de día 26 las significancias se observaron en la expresión del gen en el tejido colon siendo mayor que en base de lengua, base de paladar, buche, molleja, duodeno y yeyuno y menor que íleon y ciego (Figura 3D).

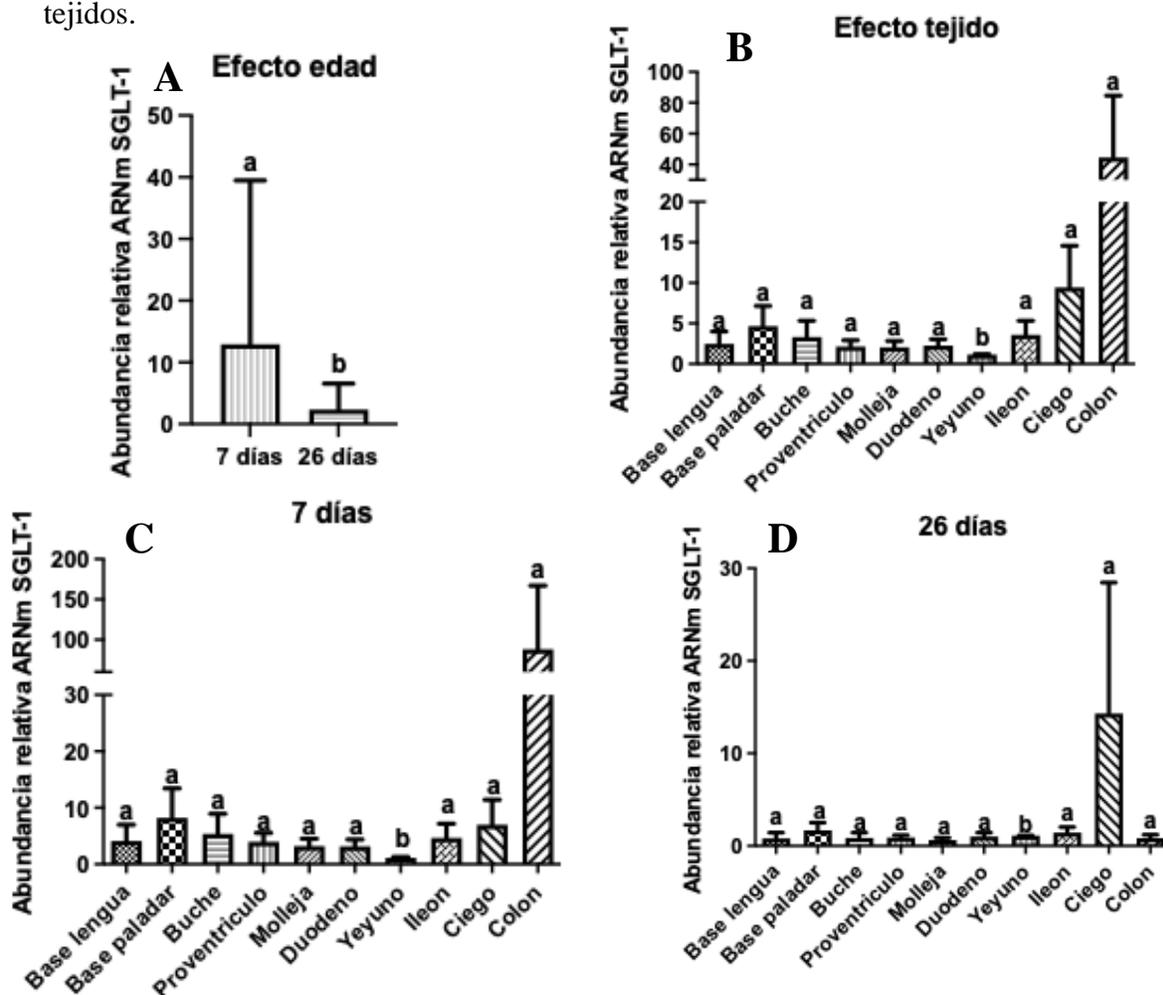


**Figura 3.** Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de GPR120 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).

## 9.2. Objetivo Específico 2: Evaluar la expresión de genes codificantes para receptores de sabor dulce en pollos broiler.

### 9.2.1. Abundancia relativa ARNm SGLT-1

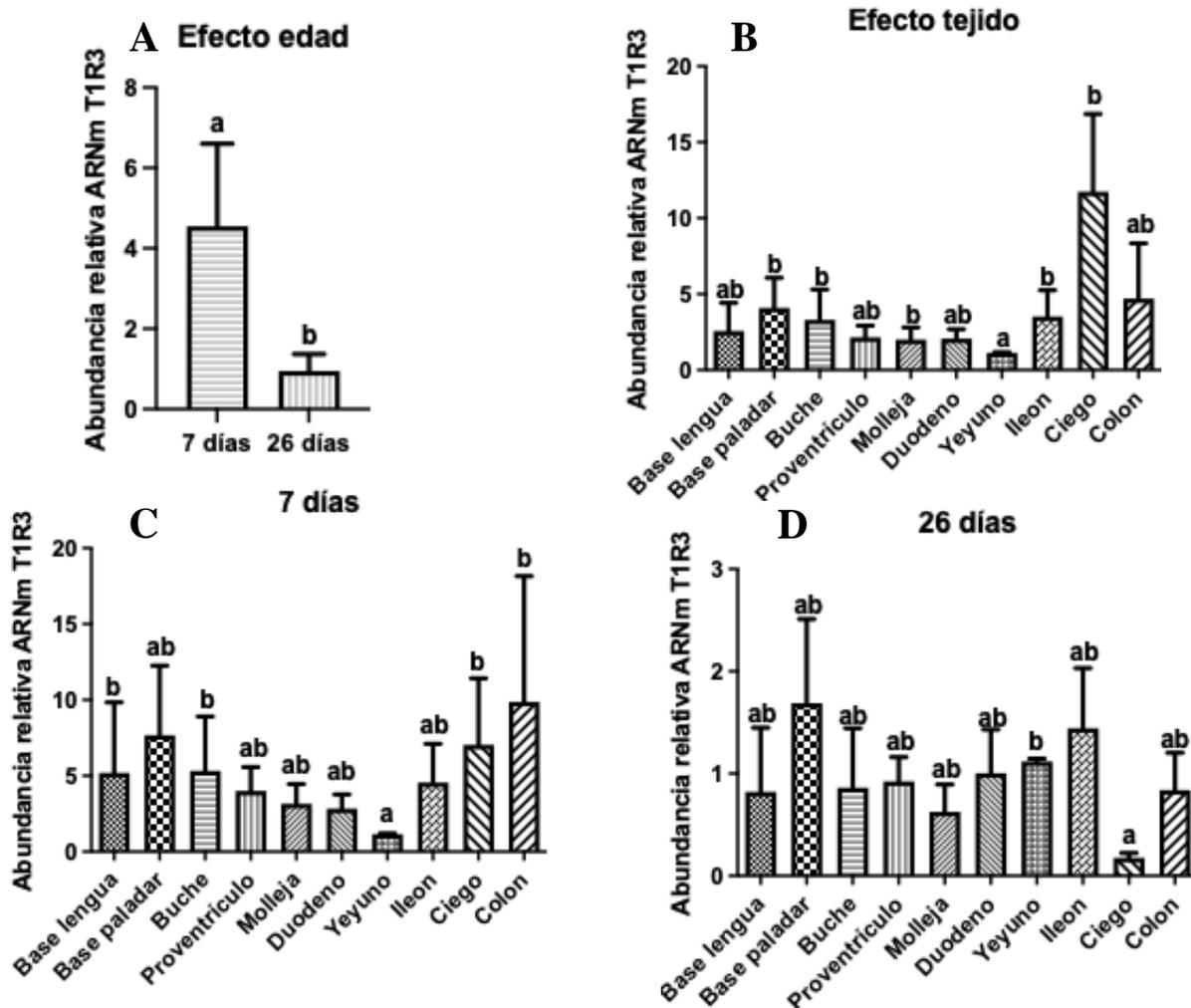
En la expresión génica de SGLT-1 en los distintos tejidos evaluados se observó diferencias significativas en la variable edad ( $p < 0,0001$ ) siendo mayor en el grupo de aves de día 7 en comparación con el grupo de aves de día 26 de ciclo (Figura 4A). En la variable tejido hubo diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) en yeyuno, siendo menor al resto de los tejidos evaluados (Figura 4B). Por su parte, se encontraron diferencias significativas ( $p = 0,00016$ ) en la variable interacción edad x tejido en los grupos de día 7 (Figura 4C) y día 26 (Figura 4D) de ciclo evidenciándose una menor expresión en yeyuno en comparación al resto de los tejidos.



**Figura 4.** Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de SGLT-1 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).

### 9.2.2. Abundancia relativa ARNm T1R3

Con respecto a la expresión génica de T1R3 en los distintos tejidos evaluados se observó diferencias significativas en la variable edad ( $p=0,001$ ) siendo mayor en el grupo de aves de día 7 en comparación con el grupo de aves de día 26 de ciclo (Figura 5A). Asimismo, hubo diferencia estadísticamente significativa en la variable tejido ( $p=0,0006$ ) encontrándose una menor expresión del gen en yeyuno en contraste con base de paladar, buche, molleja, íleon y ciego (Figura 5B). Por su parte, la variable interacción edad x tejido mostro diferencias significativas ( $p=0,005$ ) en el grupo de día 7 de ciclo con una menor expresión en yeyuno en comparación a base de lengua, paladar, ciego y colon (Figura 5C) y en el grupo de día 26 de ciclo una menor expresión de ciego en contraste con yeyuno (Figura 5D).



**Figura 5.** Análisis qPCR de la abundancia relativa de ARNm de T1R3 según efecto edad (A), tejido (B) e interacción (C y D).

## **10. DISCUSIÓN**

Como se mencionó previamente en este estudio, el TGI es un órgano sensorial importante para la detección y el reconocimiento de señales nutricionales y no nutricionales que controlan la expresión de transportadores de nutrientes, la motilidad intestinal, la digestión y absorción de nutrientes y la excreción hormonal intestinal para mediar el consumo y la utilización de nutrientes (Cheled-Shoval *et al.*, 2015; Depoortere, 2014; Margolskee *et al.*, 2007; 2015; Roura *et al.*, 2013).

Pese a que el papel del sabor graso como sabor primario, al igual que el dulce, amargo, salado, agrio y umami, y/o como modulador del sabor, aún no se han dilucidado por completo, hay evidencia relevante de que el sistema gustativo es capaz de responder a una amplia variedad de ácidos grasos (Gilbertson *et al.*, 2010).

La identificación de múltiples subtipos de GPR activados por ácidos grasos en el sistema del gusto es prometedora para ampliar la comprensión de los mecanismos que rodean el "sabor de la grasa". Si bien hasta la fecha existen pocos datos funcionales sobre estos receptores y su papel en el gusto, pueden proporcionar la explicación de la capacidad del sistema del gusto para responder a los ácidos grasos (Pittman *et al.*, 2008).

El presente estudio es el primero en investigar la expresión de receptores de ácidos grasos en los diferentes tejidos del TGI de pollos broiler, siendo el primer paso para seguir estudiando y analizando las posibles implicancias que estos podrían tener en la industria aviar.

### **10.1. Sabor graso**

En esta investigación se analizaron 10 muestras a lo largo del TGI (lengua, paladar, buche, proventrículo, molleja, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon) donde, por medio de la técnica qPCR, se observó que sí hubo una tendencia a expresarse en intestino grueso, a pesar que dichos genes codificantes no tuvieron una expresión estadísticamente significativa.

La expresión a nivel de intestino grueso se condice con la función que se ha estudiado en humanos y ratones, donde se describe que la presencia de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el lumen del colon inducen la inhibición de la motilidad gastrointestinal superior mediada por el péptido YY (a veces descrito como "freno colónico") (Ropert *et al.*, 1996).

Lo anterior parece estar mediado por la activación del receptor GPR43 expresado en células enteroendocrinas del intestino grueso (Karakı *et al.*, 2008).

También se sabe que el péptido YY es una importante hormona para el control del apetito, que inhibe la ingesta de alimentos como señal de saciedad (Cohen *et al.*, 2001). Por lo tanto, se considera que los AGCC pueden influir en el control del apetito.

Además, se ha descrito que GPR43 se acopla con proteínas G para aumentar el Ca<sup>2+</sup> intracelular y disminuir las concentraciones de AMPc (Karakı *et al.*, 2008). Y tanto el Ca<sup>2+</sup> intracelular como AMPc funcionan como segundos mensajeros para inducir la secreción de fluidos sinérgicos (Karakı y Kuwahara 2004). Por lo tanto, es posible que los AGCC funcionan como un estímulo químico luminal que se une a los receptores GPR43 y modulan la función secretora del colon (Karakı *et al.*, 2008).

Estudios previos en roedores y humanos sugieren que la microbiota intestinal y los AGCC generados contribuirían significativamente al equilibrio energético del huésped y a la adiposidad (Samuel y Gordon, 2006). Un estudio realizado en ratones deficientes en GPR41 describió que los AGCC aparentemente funcionan no sólo como combustible, sino que también pueden actuar como moléculas de señalización, dado que el receptor GPR41 es necesario para el efecto metabólico completo de estos compuestos (Samuel *et al.*, 2008).

Con respecto a GPR120, en el presente estudio se observó una expresión significativamente mayor a nivel ciego, lo cual también se ha descrito en humanos y ratones (Anbazhagan *et al.*, 2016). En ambas especies se ha demostrado que las células enteroendocrinas que expresan péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) en el colon, a su vez expresan GPR120 (Ichimura *et al.*, 2014). La secreción de GLP-1 y colecistoquinina (CCK), ambas conocidas como hormonas incretinas e involucradas en la regulación de las conductas alimentarias, el metabolismo energético y el peso corporal (Murphy y Bloom, 2004), son inducida por la estimulación de los ácidos grasos libres en las células enteroendocrinas (Ichimura *et al.*, 2014).

A pesar de estos positivos resultados, es necesario realizar más investigaciones para descubrir las funciones fisiológicas específicas de GPR120 para comprender mejor el metabolismo de los nutrientes sistémicos y la homeostasis energética.

En el presente estudio no se observó diferencia significativa alguna de expresión entre pollos de 7 y 26 días de los genes del sabor graso. Si bien no se han realizado estudios que analicen diferencias de expresión entre pollos jóvenes y adultos de genes asociados a la detección de la grasa, en otras especies como en ovinos, se observó que existe una mayor expresión en individuos de más edad, por efecto edad y por efecto de la dieta, ya que dietas de individuos adultos presentan una mayor porcentaje de materia grasa (Ran *et al.*, 2019). Por lo que en pollos se esperaría que tuvieran una respuesta similar.

## **10.2. Sabor dulce**

Los azúcares de la dieta se transportan desde la luz intestinal a los enterocitos mediante SGLT-1 (Díaz y Burgos, 2002). La regulación de esta proteína es importante para el suministro de glucosa al cuerpo y evitar la malabsorción intestinal (Margolskee *et al.*, 2007). Se describe en ratones que SGLT-1 se expresa principalmente en el intestino delgado con mayor densidad en el yeyuno seguido por el duodeno y luego el íleon (Kreuch *et al.*, 2018).

En estos resultados se observó en el grupo de individuos de 7 días una tendencia a expresarse más a nivel de ciego, a pesar de no ser estadísticamente significativa, y se encontró una expresión muy baja y no significativa en los demás tejidos del TGI. Según estudios, este gen debió haberse expresado a nivel de intestino delgado, siendo este el principal sitio de absorción de monosacáridos como glucosa, galactosa, manosa y fructosa (Bermúdez *et al.*, 2007). Estudios en ratones determinaron que la expresión de SGLT-1 a nivel de intestino grueso es nula (Madunić *et al.*, 2017), sin embargo, a pesar de que estos resultados debiesen ser similares en la especie en cuestión por la función del receptor (Díaz y Burgos, 2002), es importante mencionar que, aunque nuestros resultados no son concordantes con lo ya publicado, hasta la fecha no hay información científica publicada sobre la expresión de SGLT-1 específicamente en pollos, por lo que las diferencias entre estos resultados deberán seguir siendo motivo de estudio para futuras investigaciones.

Lo mismo ocurrió con los resultados referidos al gen T1R3, los cuales tampoco tuvieron una distribución de expresión concordante con estudios publicados. Los resultados obtenidos del análisis de la expresión de ARNm de T1R3 de Dong (2020) y Cheled-Shoval *et al.* (2015) arrojaron una expresión significativamente mayor a nivel de duodeno, yeyuno, íleon y colon, a diferencia del presente trabajo donde se obtuvo una expresión baja y similar a lo largo de todos los tejidos del TGI.

En relación al efecto edad, se encontró una expresión significativamente mayor en individuos de 7 días de los genes del sabor dulce en comparación al grupo de individuos de 26 días. Se ha estudiado que en corderos, tanto la actividad como la expresión de ARNm de SGLT1 aumentaron a niveles máximos dentro de las primeras 2 semanas después del nacimiento y luego disminuyeron a niveles constantes bajos que se mantuvieron durante 2 a 3 años (Aschenbach *et al.*, 2002), lo cual podría explicar la mayor expresión de T1R3 y SGLT-1 en individuos jóvenes. Sin embargo, en otras especies como ratones y humanos, al haber un aumento en los carbohidratos en la dieta con la edad, siendo esta la situación que ocurre en pollos broiler, el aumento de los niveles de nutrientes en la luz del intestino delgado aumenta la actividad y la expresión de SGLT-1 (Gal-Garber *et al.*, 2000).

Por un lado esta disimilitud de resultados se podría explicar por las diferencias en la metodología, más específicamente por la ausencia de controles internos en el proceso de amplificación de los genes en cuestión. Y por otro lado, tener diferencias con los resultados ya disponibles en la literatura, y tal como se mencionó anteriormente, se explica porque la información disponible aún es muy escasa, lo cual hace difícil establecer patrones de respuesta certeros y repetitivos aún, por lo que no se debe descartar que estos resultados aún discrepantes puedan ayudar a resolver estos vacíos en investigaciones futuras.

Este tipo de investigaciones nos sugiere el gran desafío que la comunidad científica deberá enfrentar con el fin de generar más conocimiento sobre la relación entre expresión génica y detección de sabores grasos y dulces. Este tipo de información se vuelve relevante en una industria que está en constante crecimiento e intensificación, y también donde la obtención de la materia prima necesaria para la formulación de dietas en estos animales actualmente se ha vuelto un reto considerando las consecuencias provocadas por el conflicto Rusia-Ucrania,

donde tanto la disponibilidad como los costos de ciertos insumos se han visto afectados negativamente de forma considerable (Behnassi y El Haiba, 2022).

Estudios como estos permitirán en un futuro comprender los mecanismos celulares y moleculares relacionados a la detección de sabores y, de esta forma, modificar la manera en que se realiza la formulación de alimentos y aditivos actualmente, dando paso a una optimización de los recursos utilizados en ella.

## **11. CONCLUSIÓN**

De esta Memoria de Título se concluye que existe expresión diferencial de receptores asociados a la percepción de sabores graso y dulce en los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal de pollos broiler. Por lo demás, no hubo variación de la expresión de receptores del sabor graso con la edad, sin embargo, con respecto al sabor dulce, si hubo variación según la edad de las aves, siendo mayor en el grupo de aves de 7 días en comparación con el grupo de 26 días. Por lo tanto, se valida la hipótesis planteada en el trabajo.

Estos hallazgos contribuyen de manera sustancial al conocimiento sobre la expresión génica de receptores de sabor graso y dulce en el TGI de pollos broiler, pero también a la urgente necesidad de más ensayos y estudios, y de esta forma aplicar estos nuevos conocimientos en la industria avícola.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

**ANBAZHAGAN, A.N.; PRIYAMVADA, S.; GUJRAL, T.; BHATTACHARYYA, S.; ALFREAI, W.A.; DUDEJA P.K. BORTHAKUR, A.** 2016. Am J Physiol Cell. 310(7):C612-621

**ASCHENBACH, J.; TITUS, B.; GOTTHOLD, G.** Glucose Uptake via SGLT-1 Is Stimulated by 2-Adrenoceptors in the Ruminant Epithelium of Sheep. 2002. J Nutr. 132:1254-1257.

**BALDWIN, M.W.; TODA, Y.; NAKAGITA, T.; O'CONNELL, M.J.; KLASING, K.C.; MISAKA, T.; EDWARDS, S.V.; LIBERLES, S.D.** 2014. Evolution of sweet taste perception in hummingbirds by transformation of the ancestral umami receptor. Sci. 345(6199):929-933.

**BEHNASSI, M., EL HAIBA, M.** 2022. Implications of the Russia–Ukraine war for global food security. Nature Human Behaviour, 1-2.

**BERMÚDEZ, V.; BERMÚDEZ, F.; ARRAIZ, N.; LEAL, E.; LINARES, S.; MENGUAL, E.; VALDELAMAR, L.; RODRÍGUEZ, M.; SEYFI, H.; AMELL, A.; CARRILLO, M.; SILVA, C.; ACOSTA, A.; AÑEZ, J.; ANDARA, C.; ANGULO, V.; MARTINS, G.** 2007. Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. [en línea] <  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642007000200002#:~:text=El%20SGLT%2D1%20se%20organiza,%2C%20galactosa%2C%20manosa%20y%20fructosa](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642007000200002#:~:text=El%20SGLT%2D1%20se%20organiza,%2C%20galactosa%2C%20manosa%20y%20fructosa)> [consulta: 25-02-2022].

**BYERLY, M.S.; SIMON, J.; COGBURN, L.A.; LE BIHAN-DUVAL, E.; DUCLOS, M.J.; AGGREY, S.E.; PORTER, T.E.** 2010. Transcriptional profiling of hypothalamus during development of adiposity in genetically selected fat and lean chickens. Physiol. Genomics. 42(2):157-167.

**CHELED-SHOVAL, S.L.; DRUYAN, S.; UNI, Z.** 2015. Bitter, sweet and umami taste receptors and downstream signaling effectors: Expression in embryonic and growing chicken gastrointestinal tract. *Poult. Sci.* 94(8):1928-1941.

**COHEN, P.; ZHAO, C.; CAI, X.; MONTEZ, J.M.; ROHANI, S.C.; FEINSTEIN, P.; MOMBAERTS, P., FRIEDMAN, J.M.** 2001. Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity. *J Clin Invest.* 108:1113–1121.

**DÍAZ, D.; BURGOS, L.C.** 2002. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. *Iatreia.* 15(3), 179-189.

**DONG, B.** 2020. Molecular characterization and expression of umami receptors T1R1/T1R3 in broiler chickens. Thesis Master of Science. Winnipeg, Canada. University of Manitoba. Dept of Animal Science. 99 p.

**ENGELSTOFT, M.S.; EGEROD, K.L; HOLST, B.; SCHWARTZ, T.W.** 2008. A Gut Feeling for Obesity: 7TM Sensors on Enteroendocrine Cells. *Cell Metab.* 8(6):447-449.

**FAO, ORGANIZACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN Y AGRICULTURA.** Portal de producción y productos agrícolas. [en línea] <<http://www.fao.org/poultry-production-products/es/>> [consulta: 06-02-2020].

**FURUSE, M.; MABAYO, R.T.; CHOI, Y.H.; OKUMURA, J.; DENBOW, D.M.** 1993. Feeding Behaviour in Chickens Given Diets Containing Medium Chain Triglyceride. *Br. Poult. Sci.* 34(1):211-217.

**FURUSE, M.; MABAYO, R.T.; OKUMURA, J.I.** 1996. The role of gustation in oil preference in the chicken. *Jpn. Poult. Sci.* 33:256–260.

**GAL-GARBER, O.; MABJEESH, S.J.; SKLAN, D.; UNI, Z.** 2000. Partial Sequence and Expression of the Gene for and Activity of the Sodium Glucose Transporter in the Small Intestine of Fed, Starved and Refed Chickens. *J Nutr.* 130(9): 2174-2179.

**GILBERTSON, T.A.; YU, T.; SHAH, B.P.** 2010. Gustatory Mechanisms for Fat Detection. **IN:** Jean Pierre Montmayeur. Fat Detection: Taste, Texture, and Post Ingestive Effects. CRC Press. Boca Raton, EEUU. Capítulo 3.

**GORBOULEV, V.; SCHÜRMAN, A.; VALLON, V.; KIPP, H.; JASCHKE, A.; KLESSEN, D.; FRIEDRICH, A.; SCHERNECK, S.; RIEG, T.; CUNARD, R.; VEYHL-WICHMANN, M.; SRINIVASAN, A.; BALEN, D.; BRELJAK, D.; REXHEPAJ, R.; PARKER, H.E.; GRIBBLE, F.M.; REIMANN, F.; LANG, F.; WIESE, S.; SABOLIC, I.; SENDTNER, M.; KOEPEL, H.** 2012. Na(+)-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes*. 61(1):187-96.

**ICHIMURA, A.; HARA, T.; HIRASAWA, A.** 2014. Regulation of energy homeostasis via GPR120. *Front. Endocrinol.* 5:111.

**JANSSEN, S.; DEPOORTERE, I.** 2013. Nutrient sensing in the gut: New roads to therapeutics? *Trends Endocrinol. Metab.* 24(2):92-100.

**KARAKI, S.; KUWAHARA, A.** 2004. Regulation of intestinal secretion involved in the interaction between neurotransmitters and prostaglandin E2. *Neurogastroenterol Motil.* 16(1):96-99.

**KARAKI, S.; TAZOE, H.; HAYASHI, H.; KASHIWABARA, H.; TOOYAMA, K.; SUZUKI, Y.; KUWAHARA, A.** 2008. Expression of the short-chain fatty acid receptor, GPR43, in the human colon. *J Mol Hist.* 39:135-142.

**KREUCH, D.; KEATING, D.J.; WU, T.; HOROWITZ, M.; RAYNER, C.K.; YOUNG, R.L.** 2018. Gut Mechanisms Linking Intestinal Sweet Sensing to Glycemic Control. *Front. Endocrinol.* 9:741.

**LAGERSTRÖM, M.C.; HELLSTRÖM, A.R.; GLORIAM, D.E.; LARSSON, T.P.; SCHIÖTH, H.B.; FREDRIKSSON, R.** 2006. The G protein-coupled receptor subset of the chicken genome. *PLoS. Comput. Biol.* 2(6): e54.

**LIU, H.X.; RAJAPAKSHA, P.; WANG, Z.; KRAMER, N.E.; MARSHALL, B.J.** 2018. An Update on the Sense of Taste in Chickens: A Better Developed System than Previously Appreciated. *Int J Food Sci Nutr.* 8(2).

**MADUNIĆ, I, V.; BRELJAK, D.; KARAICA, D.; KOEPESELL, H.; SABOLIĆ, I.** 2017. Expression profiling and immunolocalization of Na<sup>+</sup>-D-glucose-cotransporter 1 in mice employing knockout mice as specificity control indicate novel locations and differences between mice and rats. *Pflugers Archiv: European journal of physiology*, 469(12), 1545–1565.

**MARGOLSKEE, R.; DYER, J.; KOKRASHVILI Z.; SALMON, K.; ILEGEMS, E.; DALY, K.; MAILLET, E.; NINOMIYA, Y.; MOSINGER, B.; SHIRAZI-BEECHEY, S.** 2007. T1R3 and Gustducin in Gut Sense Sugars to Regulate Expression of Na<sup>+</sup>-Glucose Cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.* 104(38):15075–80.

**MESLIN, C.; DESERT, C.; CALLEBAUT, I.; DJARI, A.; KLOPP, C.; PITEL, F.; LEROUX, S.; MARTIN, P.; GUILBERT, E.; GONDRET, F.; LAGARRIGUE, S.; MONGET, P.** 2015. Expanding duplication of free fatty acid receptor-2 (GPR43) genes in the chicken genome. *Genome Biol Evol.* 7(5):1332-1348.

**MURPHY, G.; BLOOM, S.** 2004. Gut hormones in the control of appetite. *Exp Physiol.* 89(5):507-16.

**NRC, NATIONAL RESEARCH COUNCIL.** 1994. *Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994.* Washington, DC: The National Academies Press.

**NIKNAFS, S.; ROURA, E.** 2018. Nutrient sensing, taste and feed intake in avian species. *Nutr Res Rev.* 31(2):256-266.

**OIE, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL.** 2019. Sacrificio de animales. Código Sanitario para los Animales Terrestres. 7.5(7.5.1).

**PITTMAN, D.W.; SMITH, K.R.; CRAWLEY, M.E.; CORBIN, C.H.; HANSEN, D.R.; WATSON, K.J.; GILBERTSON, T.A.** 2008. Orosensory detection of fatty acids by

obesity-prone and obesity-resistant rats: Strain and sex differences. *Chem Senses*. 33:449-460.

**RAN, T.; LIU, Y.; JIAO, J.Z.; ZHOU, C.S.; TAN, S.X.; WANG, M.; HE, Z.X.; TAN, Z.L.; YANG, W.Z.; BEAU CHEMIN, K.A.** 2019. Postnatal differential expression of chemoreceptors of free fatty acids along the gastrointestinal tract of supplemental feeding v. grazing kid goats. *Animal*. 13(3):509-517.

**ROPERT, A.; CHERBUT, C.; ROZE, C.; QUELLEC, A.; HOLST, J.J.; FU CHENG, X.; BRULEY DES VARANNES, S.; GALMICHE, J.P.** 2008. Colonic fermentation and proximal gastric tone in humans. *Gastroenterology*. 111:289-296.

**ROURA, E.; BALDWIN, M.W.; KLASING, K.C.** 2013. The avian taste system: Potential implications in poultry nutrition. *Anim Feed Sci Tech*. 180(1-4):1-9.

**ROZENGURT, E.** 2006. Taste Receptors in the Gastrointestinal Tract. I. Bitter taste receptors and a-gustducin in the mammalian gut. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 291(2):171-7.

**SAMUEL, B.S.; GORDON, J.I.** 2006. A humanized gnotobiotic mouse model of host-archael-mutualism. *Proc Natl Acad Sci*. 103:10011-10016.

**SAMUEL, B.S.; SHAITO, A. MOTOIKE, T.; REY, F.E.; BACKHED, F.; MANCHESTER, J.K.; HAMMER, R.E.; WILLIAMS, S.C.; CROWLEY, J.; YANGISAWA, M.; GORDON, J.I.** 2008. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.* 105(43):16767-14772

**SHI, P.; ZHANG, J.** 2006. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol Biol Evol*. 23: 292–300.

**SHIRAZI-BEECHEY, S.P.; MORAN, A.W.; BRAVO, D.; AL-RAMMAHI, M.** 2011. Nonruminant Nutrition Symposium: intestinal glucose sensing and regulation of glucose absorption: implications for swine nutrition. *J Anim Sci*. 89(6):1854-62.

**SMULDERS, F.J.M.; ALGERS, B.** 2009. Welfare of production animals: assessment and management of risks. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, Países Bajos. v. 5.

**SUKUMARANA, S.K.; YEEA, K.K.; IWATAB, S.; KOTHAA, R.; QUEZADA-CALVILLO, R.; NICHOLS, B.L.; MOHAN, S.; PINTO, B.M.; SHIGEMURA, N.; NINOMIYA, Y.; MARGOLSKEE, R.F.** 2016. Taste cell-expressed  $\alpha$ -glucosidase enzymes contribute to gustatory responses to disaccharides. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 113(21).

**XU, H.; STASZEWSKI, L.; TANG, H.; ADLER, E.; ZOLLER, M.; LI, X.** 2004. Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors. Proc Natl Acad Sci. U.S.A. 101:14258–14263.

### 13. ANEXO

#### Dieta broiler inicial:

Ingrediente	Porcentaje de inclusión
Maíz grano	55,4%
Gluten meal 60	3%
Conchuela gruesa	1,4%
Afrecho de soya 47	27%
Afrecho Raps	4%
Afrechillo de trigo	5%
Lisina	0,22%
Metionina	0,21%
Micofix plus	0,05%
Sal común	0,44%
Formicit dry	0,1%
Coccidiostato	0,05%
Nucleo plin 307	0,2%
Fosfato dicálcico	1,18%
Aceite de oleína	1,65%

#### Dieta broiler final:

Ingrediente	Porcentaje de inclusión
Maíz grano	63%
Conchuela gruesa	1,6%
Afrecho de soya 47	19,2%
Afrecho Raps	7%
Afrechillo de trigo	5%
Lisina	0,16%
Metionina	0,31%
Micofix plus	0,05%
Sal común	0,4%
Formicit dry	0,1%
Coccidiostato	0,05%
Nucleo plin 307	0,2%
Fosfato dicálcico	0,71%
Aceite de oleína	2%